

LPA₃ receptor-mediated LPA production is involved in the initiation of neuropathic pain

神経障害性疼痛における LPA₃ 受容体を介するリゾホスファチジン酸合成機構の関与

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 馬 琳

[目的]

脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸 (LPA) は、LPA₁ 受容体活性化を介して神経障害性疼痛を誘発する。しかしながら、神経障害性疼痛時における LPA 産生時期とその制御機構については十分に解明されていない。

本研究では、神経障害後の脊髄後角における LPA 産生時期とその制御機構の解明を目的とした。第 1 章では神経障害後における LPA₁ 受容体活性化の初発時期、第 2 章では脊髄後角における LPA 産生の定量とその制御機構、第 3 章では神経障害性疼痛における LPA 産生制御機構の関与、第 4 章では LPA 産生の増幅機構、第 5 章では LPA 産生におけるグリア細胞の関与、について解析した。

[結果および考察]

第 1 章 神経障害後疼痛を担う障害初期の LPA₁ 受容体活性化とその分子基盤

1. LPA₁ 受容体拮抗薬である Ki-16425 を用いた行動薬理的解析から、神経障害 3 時間後における LPA₁ 受容体活性化が神経障害性疼痛に関与することを明らかにした。
2. 神経障害 3 時間後における Ki-16425 処置が、神経障害後の脊髄後根神経節における Ca_vα₂δ-1 の発現増加、および脊髄後角におけるサブスタンス P の発現低下を抑制することを見出した。

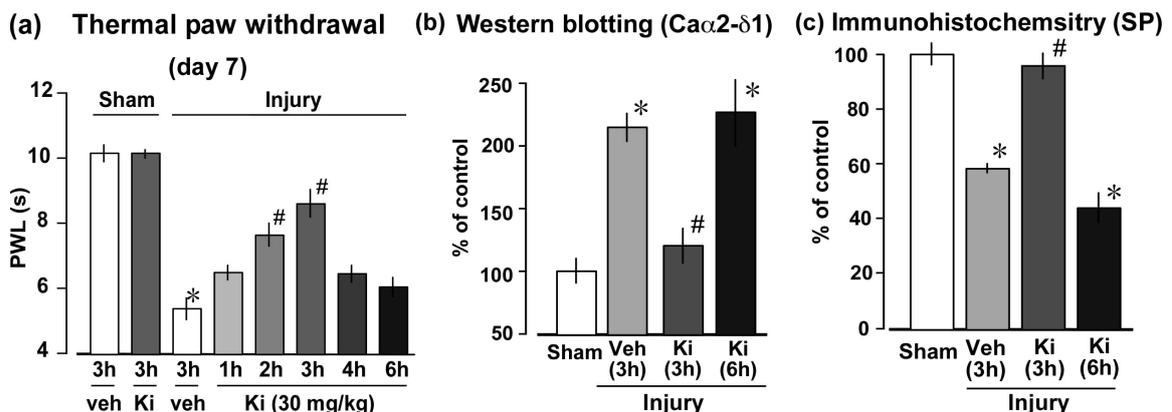


Fig. 1 Early treatment with Ki-16425, but not late treatment, inhibits nerve injury-induced neuropathic pain (a), up-regulation of Ca_vα₂δ-1 (b) and reduction of SP (c).

第 2 章 脊髄における LPA 産生とその制御機構

1. LPA₁ 受容体を強制発現させた B103 細胞を用いて、LPA 刺激による B103 細胞の

形態学的変化を指標とした LPA の定量法を確立した。

2. 脊髄スライス標本を用いて、サブスタンス P と NMDA の共刺激が LPA 前駆体であるリゾホスファチジルコリン (LPC) 産生を誘発し、さらには細胞外の LPA 産生酵素であるオートタキシン (ATX) により LPA が生じることを見出した。さらに、その情報伝達機構について、NK1 受容体と NMDA 受容体下流における細胞内カルシウム濃度上昇と PKC/MAPK 経路を介する cPLA₂ 及び iPLA₂ の活性化が関与することを明らかにした。

第3章 神経障害後の脊髄における LPA 産生とその制御機構

1. 第2章にて確立した LPA の定量法を用いて、坐骨神経の部分結紮による神経障害が、脊髄および脊髄後根における LPA 産生を誘発することを明らかにした。
2. cPLA₂ と iPLA₂ に対する各阻害薬が、神経障害後の脊髄及び脊髄後根における LPA 産生を抑制し、さらには神経障害性疼痛を減弱させることを見出した。

第4章 LPA₃ 受容体を介する LPA 誘発性 LPA 産生増幅機構

1. 第2章にて確立した LPA の定量法を用いて、LPA 刺激が脊髄後角における LPA 産生を誘発することを見出した。さらに、この LPA 誘発性 LPA 産生が、LPA₃ 受容体遺伝子欠損動物と ATX 遺伝子ヘテロ欠損動物において消失することを明らかにした。
2. LPA₃ 受容体遺伝子欠損動物において、神経障害性疼痛が減弱することを見出した。

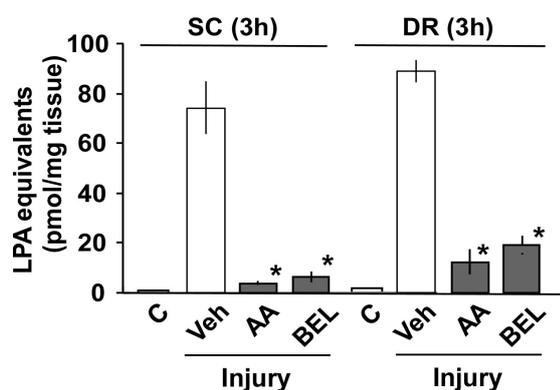


Fig. 2 Nerve injury induced newly LPA production, which was blocked by cPLA₂ and iPLA₂ inhibitors (AA and BEL, respectively).

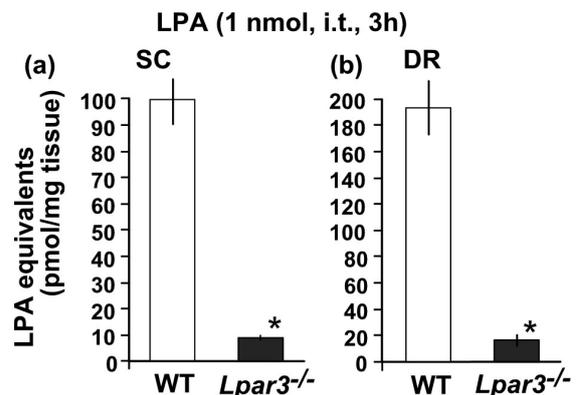


Fig. 3 LPA injection induced feed-forward LPA productions in spina cord (a) and dorsal root (b), which were blocked in LPA₃ receptor knock-out mice.

第5章 神経障害性疼痛における脊髄ミクログリアを介する LPA 産生の関与

1. ミクログリア阻害薬であるミノサイクリンを用いて、神経障害初期のミクログリアが、神経障害誘発性および LPA 誘発性の LPA 産生を抑制することを明らかにした。
2. 神経障害初期のミノサイクリン処置が神経障害性疼痛を抑制することを見出した。一方、神経障害後期のミノサイクリン処置は神経障害性疼痛に無影響であり、ミクログリアの活性化は、神経障害性疼痛の形成に関与することが強く示唆された。

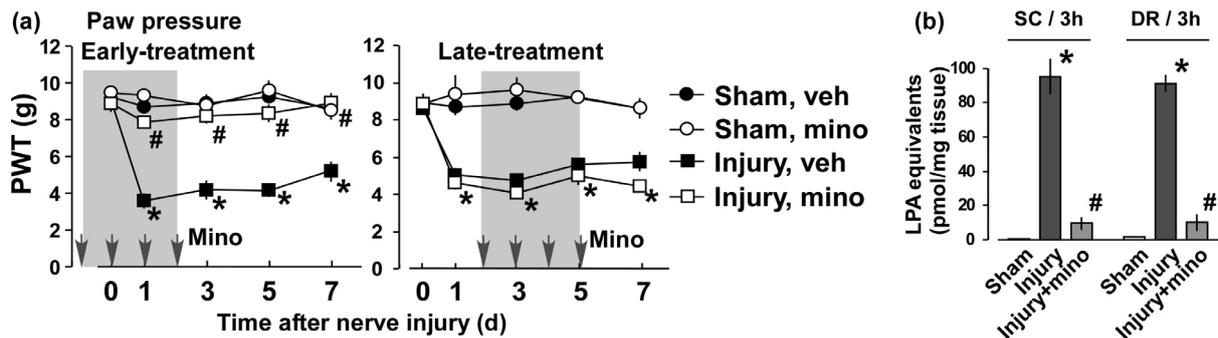


Fig. 4 Nerve injury-induced neuropathic pain (a) and LPA production (b) were blocked by early-treatments with minocycline, an inhibitor for microglial activation, but not late-treatments.

[まとめ]

本研究では、神経障害後の脊髄後角におけるLPA産生時期とその制御機構を解明した。まず、神経障害3時間後のLPA₁受容体活性化が神経障害性疼痛の発症に関与することを明らかにした。次に、神経障害による強度の侵害刺激が脊髄と脊髄後根におけるLPA産生を誘発し、その分子機構にcPLA₂とiPLA₂の活性化およびLPA産生酵素ATXが関与することが強く示唆された。脊髄後根におけるLPAは、脱髄を誘発し、神経障害性疼痛の発症に関与すると考えられる。一方、脊髄におけるLPAは、ミクログリア細胞とLPA₃受容体を介して更なるLPA産生を誘発し、神経障害性疼痛を生じることが明らかにした。LPA産生の制御機構を標的とした、神経障害性疼痛の新たな治療戦略を提案する本研究が、今後の研究の基盤となり、更なる発展に繋がることを期待したい。

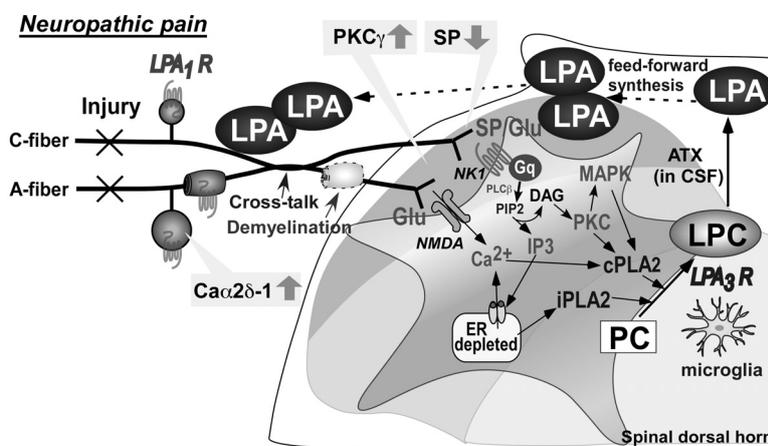


Fig. 5 "Feed-forward system" through LPA-induced signals for the mechanisms of nerve injury-induced neuropathic pain.

[基礎となった学術論文]

1. Ma L, Nagai J and Ueda H. *J Neurochem*, 115: 643-653 (2010).
2. Ma L, Uchida H, Nagai J, Inoue M, Aoki J and Ueda H. *J Pharmacol Exp Ther*, 333: 540-546 (2010).
3. Ma L, Uchida H, Nagai J, Inoue M, Chun J, Aoki J and Ueda H. *Mol Pain*, 5: 64 (2009).
4. Ma L, Matsumoto M, Xie W, Inoue M and Ueda H. *J Neurochem*, 109: 603-610 (2009).
5. Inoue M, Ma L, Aoki J and Ueda H. *J Neurochem*, 107: 1556-1565 (2008).

[参考論文]

1. Uchida H, Ma L and Ueda H. *J Neurosci*, 30: 4806-4814 (2010).
2. Uchida H, Sasaki K, Ma L and Ueda H. *Neuroscience*, 166: 1-4 (2010).
3. Matsumoto M, Xie W, Ma L and Ueda H. *Mol Pain*, 4:25 (2008).
4. Inoue M, Ma L, Aoki J, Chun J and Ueda H. *Mol Pain*, 4:6 (2008).